

内陆续有不少的厂家已取得针对新型冠状病毒核酸检测(多重实时荧光 RT-PCR 法)的试剂盒国家医疗器械注册证,可用于临床开展新型冠状病毒核酸检测,其中有的厂家不断对试剂的检测限进行了优化,比如上海之江生物科技股份有限公司,早期该公司旧批号试剂的最低检测限为 1×10^3 copies/mL,而目前生产的新批号试剂最低检测限为 200 copies/mL;有的厂家设计内源性内标检测系统,除了与外源性添加的内标一样能监控核酸提取过程及 PCR 扩增过程的有效性外,还能监控标本的采集有效性,例如中山大学达安基因股份有限公司、上海伯杰医疗科技有限公司等。

本研究结果显示,C 组经优化后的 RT-PCR 法微量加样操作流程可明显减少因内标不符合要求导致的标本复检,可有效减少复检的标本量,提高新型冠状病毒核酸检测报告的及时性,减少技术操作问题对检测结果准确性、可靠性的影响。检测人员提升核酸检测能力,既有利于巩固防控成果,维护群众健康,又有助于人员合理流动,推动全面复工、复产、复学,是“外防输入、内防反弹”的重要措施。

参考文献

[1] 杨海燕,徐洁,李岩,等.新冠肺炎聚集性疫情特征初步分析[J].中华流行病学杂志,2020,41(5):623-628.
[2] 国务院应对新型冠状病毒肺炎疫情联防联控机制综合临床实验室检测技术专题·临床探讨 DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.17.006

组.关于印发新型冠状病毒肺炎防控方案(第八版)的通知:联防联控机制综发〔2021〕51 号(EB/OL). (2021-05-14) [2021-06-01] <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202105/6f1e8ec6c4a540d99fafef52fc86d0f8.shtml>.
[3] 李金明,林尊慧,王露楠,等.基于日常检测结果的核酸扩增检测假阳性统计室内质量控制方法[J].中华检验医学杂志,2006,29(3):275-277.
[4] 王海宝,汪德清,骆群,等. HBV-HCV-HIV 三联荧光 PCR 检测的内标浓度选择研究[J]. 检验医学,2008,23(6):630-632.
[5] 曾劲峰,李活,许晓娟,等.核酸血液筛查试剂内标质控效果研究[J].中国输血杂志,2009,22(12):1001-1003.
[6] 肖性龙,何雅青,余以刚,等.内标多重实时荧光 RT-PCR 同时检测肠道病毒 71 型和柯萨奇病毒 A16 型[J].微生物学报,2009,49(1):98-104.
[7] 姜文灿,岳素文,江洪,等.分子信标-TapMan 探针法实时荧光定量 PCR 新型探针及引物[J].生物技术通报,2016,32(11):107-114.
[8] 何晓华,史贤明.扩增内标及其在食源性致病菌 PCR 检测中的应用[J].微生物学报,2010,50(2):141-147.
[9] 刘斌,史贤明.扩增内标在沙门氏菌 PCR 检测方法中的应用[J].微生物学通报,2006,33(2):156-161.
[10] 但现龙,刘斌,李小玲,等.添加有扩增内标的沙门氏菌荧光定量 PCR 检测体系的建立与评价[J].微生物学报,2011,51(8):1119-1127.

(收稿日期:2021-06-20 修回日期:2021-06-30)

高速离心法消除脂血对临床常规生化检测项目的干扰分析

李宜铮,李丽莉,薛云松[△],周林华,李增安,王芳,罗翔燕
云南省第二人民医院检验科,云南昆明 650000

摘要:目的 分析高速离心法对消除脂血干扰临床常规生化检测项目结果的价值。方法 收集 50 份脂血标本,常规离心法离心后使用雅培 C-16000 全自动生化分析仪检测 19 项常规生化项目,包括总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、前清蛋白(PA)、总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)、总胆汁酸(TBA)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、γ-谷氨酰转氨酶(GGT)、尿素氮(UREA)、尿酸(UA)、肌酐(CREA)、葡萄糖(GLU)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、载脂蛋白 A1(APOA1)、载脂蛋白 B(APOB)、脂蛋白 a(LPa)。分离血清高速离心后取下层清亮血清再次检测上述项目。比较两次结果差异。结果 高速离心法离心后,APOA1、APOB、LPa、TP、ALB、PA、DBIL、UA、CREA、GLU 的检测方法与常规离心法离心后检测结果比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。而两种不同离心方法离心后的 HDL-C、LDL-C、AST、ALT、GGT、ALP、TBIL、TBA、UREA 检测结果比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 脂血对部分常规生化检测项目结果有干扰,对使用免疫比浊法或单试剂检测时干扰很明显,使用高速离心法能简便快速地减弱干扰,提高检测结果的可靠性。

关键词:脂血; 常规生化; 干扰; 高速离心法
中图分类号:R446.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2021)17-2481-03

影响临床生化实验室检测结果失真的常见检验前因素有标本溶血、脂血(乳糜血)、标本稀释、标本类型错误等,及时识别出检测的干扰因素并采取合适的应对措施对保证检测结果的可靠性具有重要意义。

[△] 通信作者,E-mail:wjy801113@qq.com.
本文引用格式:李宜铮,李丽莉,薛云松,等.高速离心法消除脂血对临床常规生化检测项目的干扰分析[J].检验医学与临床,2021,18(17):2481-2483.

脂血是临床生化检验中常见的导致标本不合格的因素之一,不同程度的脂血会对生化检测结果造成不同的影响^[1]。患者机体代谢原因及注射脂肪乳等都会造成脂血标本,因此,不同于其他不合格标本,往往退回重采标本的措施也无法避免脂血标本发生。在日常检验工作中,消除脂血对常规生化结果的影响具有实际意义。本研究采用高速离心法处理脂血标本,探讨高速离心前后常规生化项目检测结果是否有差异。

1 材料与方法

1.1 标本来源 从 2020 年 1—8 月本院收治的患者中收集 50 份脂血标本,血清外观为乳白色,三酰甘油>16.05 mmol/L(试剂说明书的检测上限),标本管为黄色血清管(含分离胶,无促凝剂)。

1.2 仪器与试剂 雅培 C-16000 全自动生化分析仪、湘仪 CTK120C 自动脱盖离心机、湘仪 H1850 高速离心机。总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、γ-谷氨酰转移酶(GGT)、尿酸(UA)、葡萄糖(Glu)检测试剂均为美国雅培制药有限公司产品(批号分别为 36010UN19、36010UN19、41367UN19、54975UN19、51891UN19、33533UN19、28802UN19、55718UN19),前清蛋白(PA)、总胆汁酸(TBA)、尿素氮(UREA)、载脂蛋白 A1(APOA1)、载脂蛋白 B(APOB)检测试剂均为中生北控生物科技股份有限公司产品(批号分别为 92637098、92685089、92618098、92651133、926532133),总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)检测试剂均为日本和光纯药工业株式会社产品(批号分别为 ER325、ER330),肌酐(CREA)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、脂蛋白 a(LPa)检测试剂均为积水医疗科技(中国)有限公司产品(批号分别为 844RLQ、838RKQ、840RLQ、829RHQ)。

1.3 检测项目 检测项目包括 TP、ALB、PA、TBIL、DBIL、TBA、AST、ALT、ALP、GGT、UREA、UA、CREA、GLU、HDL-C、LDL-C、APOA1、APOB、LPa

共 19 项指标。

1.4 检测方法 仪器参数设置按照仪器和试剂说明书进行。质控品为伯乐生命医学产品(上海)有限公司多项生化质控品,包括中值(批号 45832)和高值(批号 45833)两个水平,检测当天仪器状态正常,本研究检测项目的质控结果均在控,无失控和警告。收集门诊和住院部患者生化检测标本,常规离心后进行检测,再将脂血血清高速离心后取下层清亮血清检测相同项目,整个过程在 2 h 内完成。将标本管置于离心机,3 500 r/min 常规离心法离心 10 min,分离血清测定。高速离心法将常规离心后的血清分离至 EP 管中,15 000 r/min 离心 10 min,弃去上层悬浮的脂质,吸取下层的清亮血清进行测定。HDL-C、LDL-C 检测原理为直接法,APOA1、APOB、PA 检测原理为免疫比浊法,LPa 检测原理为胶乳凝集比浊法,TP 检测原理为双缩脲法,ALB 检测原理为溴甲酚绿法,AST、ALT 检测原理为速率法,GGT 检测原理为左旋-γ-谷氨酰-3-羧基-4-硝基苯胺底物法,ALP 检测原理为磷酸对硝基苯法,TBIL、DBIL 检测原理为钼酸氧化法,TBA 检测原理为循环酶法,UREA 检测原理为酶耦联速率法,UA 检测原理为尿酸酶法,CREA 检测原理为酶法,GLU 检测原理为已糖激酶法。

1.5 统计处理 采用 SPSS19.0 统计学软件进行数据处理及统计分析。呈正态分布、方差齐的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,高速离心法与常规离心法离心后的检测结果间比较采用配对 *t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

高速离心法离心后,APOA1、APOB、LPa、TP、ALB、PA、DBIL、UA、CREA、GLU 的检测结果显示与常规离心法离心后检测结果比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。而两种不同离心方法离心后的 HDL-C、LDL-C、AST、ALT、GGT、ALP、TBIL、TBA、UREA 检测结果比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 两种离心方式的生化项目检测结果比较($\bar{x} \pm s, n = 50$)

离心方法	HDL-C(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)	APOA1(g/L)	APOB(g/L)	LPa(mg/L)	TP(g/L)	ALB(g/L)
常规离心法	0.61±0.18	1.70±1.36	0.77±0.23	0.14±0.26	40.27±21.82	102.29±15.26	45.94±5.09
高速离心法	0.63±0.17	1.45±0.59	1.28±0.25	0.76±0.24	37.37±21.83	76.26±5.55	45.30±4.60
<i>P</i>	0.130	0.188	<0.001	<0.001	0.011	<0.001	0.013
离心方法	PA(mg/L)	AST(U/L)	ALT(U/L)	GGT(U/L)	ALP(U/L)	TBIL(μmol/L)	
常规离心法	11.29±3.11	35.02±21.09	33.41±4.55	83.55±18.54	86.28±28.18	11.87±2.13	
高速离心法	284.59±47.40	34.8±21.32	34.53±3.97	83.37±17.73	86.04±28.50	14.24±6.19	
<i>P</i>	<0.001	0.371	0.285	0.516	0.294	0.154	
离心方法	DBIL(μmol/L)	TBA(μmol/L)	UREA(μmol/L)	UA(μmol/L)	CREA(μmol/L)	GLU(mmol/L)	
常规离心法	3.98±1.29	5.19±2.53	4.89±1.36	399.37±109.46	72.06±22.55	7.28±3.37	
高速离心法	4.64±1.28	5.19±2.59	4.91±1.35	412.82±112.68	74.63±22.78	7.44±3.40	
<i>P</i>	<0.001	0.911	0.121	<0.001	<0.001	<0.001	

3 讨 论

常规生化检验(肝功、肾功、血糖、血脂)是临床医生在为门诊和住院患者诊疗过程中开具的最常见检

验项目。近年来,随着人民群众生活水平的提高,由于饮食摄入过多脂质和代谢紊乱造成的高脂血症患者不断增加,在日常检验工作中血清外观呈“奶白色”

的乳糜血越来越常见。同时,某些需要静脉注射脂肪乳的患者也会出现类似问题。当标本中三酰甘油水平过高,外观表现为奶白色时,其中的大量乳糜微粒(CM)会对入射光产生散射,对生化项目检测结果产生影响,甚至导致出现负值结果或无法测出结果^[2-3],需要检验人员给予额外关注以消除干扰。临床实验室常用的几种消除脂血对检测结果影响的方法包括生理盐水稀释法、高速离心法、有机溶剂(乙醚)抽提法、干化学法^[1-5]。生理盐水稀释法对于结果正常或检测值较低的项目会产生较明显的误差,通常只适用于对总三酰甘油和总胆固醇进行低倍数(3 倍)稀释后检测。乙醚抽提法会对部分项目的检测过程产生干扰^[5],并有可能对实验室工作人员的健康产生不利影响,而且乙醚属于危险化学品,在安全储存方面也有额外的要求。干化学法消除脂血对检测结果的影响效果比较明显,但需要实验室额外购置相应的仪器,且干化学法检测成本较高,实验室需增加预算,同时还需要进行仪器间比对等工作。高速离心法操作简单、快速,能较好地满足临床生化实验室的日常工作需求。本研究针对 TP、ALB、PA、TBIL、DBIL、TBA、AST、ALT、ALP、GGT、UREA、UA、CREA、GLU、HDL-C、LDL-C、APOA1、APOB、LPa 共 19 项指标,比较常规离心法和高速离心法离心后的检测结果,分析高速离心法对消除脂血对常规生化检验项目的影响所具有的实用价值。

本研究结果显示, APOA1、APOB、LPa、TP、ALB、PA、DBIL、UA、CREA、GLU 这 10 项指标在高速离心法离心后检测结果均有变化,与常规离心法比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。而高速离心法离心后 HDL-C、LDL-C、AST、ALT、GGT、ALP、TBIL、TBA、UREA 的检测结果显示无明显变化,与常规离心法离心后检测结果比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),提示高速离心法降低脂血标本中 CM 的干扰后,对保证部分生化检测结果准确性有一定意义。从各项目检测的方法学可看出,脂血对免疫比浊法的检测结果有明显干扰,颜彦等^[6]的研究也得出同样的结论。另外,TP、ALB、GLU 这 3 项为单试剂单波长的检测项目,高速离心法离心后检测结果与常规离心法离心后检测结果比较,差异也有统计学意义($P < 0.05$),提示可能是单试剂检测对脂血的抗干扰能力较弱。本研究结果与部分文献报道结果稍有区别^[7-10],可能的影响因素有:(1)各个研究使用的检测系统不尽相同,仪器和试剂的性能参差不齐,干扰机制和抗干扰能力也有较大差异;(2)对脂血标本的高速离心程序没有标准化,处理过程不够详尽;(3)本研究所选取的 50 份脂血标本(常规离心法离心后血清乳白色,检测三酰甘油 $> 16.05 \text{ mmol/L}$)属于高度脂血标本,与轻度脂血、中度脂血标本结果可能有差异。

高速离心法处理脂血操作性强,简便易行,对消除脂血对部分生化检测项目的干扰有较好的实用价值,对保证临床实验室检测结果的可靠性有帮助。在

临床实验室的日常工作中,许多情况下无法简单地将脂血标本判定为不合格标本而退回标本,重新采集标本,例如,由于患者自身病理状态造成的脂血、部分急诊患者需要评估当前的机体指标、门诊患者采血后无法召回时,检验人员只能使用现有条件对标本进行处理后以发出相对准确的检测报告^[8-9],高速离心法处理脂血标本不失为一个简单实用的方法。另外,分析脂血标本对不同生化检测项目的干扰程度,对比不同的仪器、试剂和检测方法(包括波长、反应杯材质、吸光度或浊度的检测间隔时间等)对检测结果的影响,能够给日常检验工作提供更多的参考价值,如实验室在选择检测系统时对其抗干扰的能力给予额外的关注,实验室可根据自身情况配置 2 套或以上不同检测原理的检测系统,以便减少干扰,同时实验室还应针对在用检验系统的性能,加强对工作人员相关操作能力的培训^[10]。在自动化程度越来越高的流水线检测系统中,通过对检测结果的综合分析,识别出受到干扰的标本进行复检,对临床诊疗过程十分重要。检验人员应对检验前质量控制的重要性提高认识,建立规范、合理、高效的标准化处理流程,及时将脂血标本识别出来,以减少其对检测结果的干扰,为临床提供更准确的报告。

参考文献

- [1] 陈明坤,李闻捷,张建荣.溶血、脂血、黄疸样本对生化项目检测的干扰机制及消除[J].国际检验医学杂志,2014,35(16):2272.
- [2] 李顺君,左玥.临床血液标本不合格的原因及干预措施有效性分析[J].检验医学与临床,2019,16(4):536-539.
- [3] 蔡永梅,戴盛明.溶血、脂血对生化检测项目医学决定水平结果的影响分析[J].宁夏医学杂志,2017,39(12):1131-1134.
- [4] VIKTOR F, JANOS L, LAJOS B, et al. Effects of fluid resuscitation methods on the pro-and anti-inflammatory cytokines and expression of adhesion molecules after burn injury[J]. J Burn Care Res, 2010, 31(3):480-491.
- [5] 钱建平.消除脂血对临床生化检验常用指标干扰的方法比较[J].北华大学学报,2013,14(5):575-578.
- [6] 颜彦,林应标,夏川.标本溶血、脂血对实验室检验的影响及对比分析[J].吉林医学,2020,41(4):898-899.
- [7] 周垚,韩刚,季佳雯,等.序贯高速离心消除脂血对常规生化项目检测干扰的效果评价[J].南通大学学报,2017,37(5):409-412.
- [8] 高永庆.高脂血标本对临床生化、血凝等指标的干扰及对策[J].昆明医科大学学报,2013,39(9):112-114.
- [9] 黄荣哲,黄朝任,陈海燕.高脂血症对生化检验的干扰及处理措施[J/CD].临床检验杂志(电子版),2018,7(3):473-474.
- [10] NICOLE V T, ERIN J K, JENNIFER L F, et al. Neonatal intensive care unit quality initiative identifying preanalytical variables contributing to specimen hemolysis and measuring the impact of evidence-based practice interventions[J]. Am J Clin Pathol, 2016, 146(1):113-118.